



# Suppression of glucose-6-phosphate-isomerase induced arthritis by oral administration of transgenic rice seeds expressing altered peptide ligands of glucose-6-phosphate-isomerase.

著者	廣田 智哉
発行年	2017
その他のタイトル	GPIのアミノ酸変換ペプチドを発現させた遺伝子導入米の経口投与によるGPI誘導関節炎の抑制
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2016
報告番号	12102甲第8271号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/00147932">http://hdl.handle.net/2241/00147932</a>

氏 名	廣田 智哉			
学 位 の 種 類	博士（医学）			
学 位 記 番 号	博甲第 8271 号			
学位授与年月	平成 29 年 3 月 24 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科			
学位論文題目	Suppression of glucose-6-phosphate-isomerase induced arthritis by oral administration of transgenic rice seeds expressing altered peptide ligands of glucose-6-phosphate-isomerase. (GPI のアミノ酸変換ペプチドを発現させた遺伝子導入米の経口投与による GPI 誘導関節炎の抑制)			
主 査	筑波大学教授	博士（医学）	檜澤	伸之
副 査	筑波大学准教授	博士（医学）	三島	初
副 査	筑波大学准教授	博士（医学）	溝上	裕士
副 査	筑波大学助教	博士（医学）	宮寺	浩子

## 論文の内容の要旨

廣田智哉氏の博士学位論文は、Glucose-6-Phosphate-Isomerase (GPI) のアミノ酸変換ペプチドを発現させた遺伝子導入米の経口予防投与による GPI 誘導関節炎 (GPI-induced arthritis; GIA) の抑制効果を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

本研究は、自己抗原のアミノ酸変換ペプチドである Altered peptide ligand (APL) が自己免疫疾患の新規治療戦略となりうる可能性に着目し、将来の臨床的実用性を考慮して、遺伝子導入米を利用した経口予防投与の有効性を明らかにすることを目的として行ったものである。

GPI は関節炎を自然発症する K/BxN マウスの自己抗原として同定されており、ヒト GPI の T 細胞エピトープを含むペプチド (hGPI325-339) を DBA/1J マウスに免疫することでヒトの関節リウマチ類似の GIA を発症する。著者は、この GIA マウスを用いて下記に示す一連の実験を行なった。第 1 に、GIA マウスを対象とするにあたって GPI のアナログペプチドを発現させた APL 発現米を作成し、そのペプチド発現を確認している。第 2 に、作成された APL 発現米を GIA マウスに経口予防投与し、関節炎を誘導後、in vivo で肉眼的および組織学的な関節炎重症度の抑制を明らかにしている。第 3 に、同様に APL 発現米を経口予防投与された GIA マウスにおいて、血清抗 GPI 抗体価、脾臓および所属リンパ節の IL-17 産生が各々抑制されることを明らかにしている。第 4 に、血清抗 GPI 抗体産生の抑制機序を検討するにあたり、所属リンパ節における B 細胞関連分子 (BAFF、BLIMP1、IRF4、IL-6、IL-21、BCL6) の mRNA 発現を解析

しており、APL 発現米の経口予防投与によって BAFF mRNA 発現が抑制されることを明らかにしている。著者は BAFF 発現の低下を介した B 細胞活性の抑制が血清抗 GPI 抗体産生の低下に寄与する可能性を考察している。第 5 に、IL-17 産生の抑制機序として、脾臓における T 細胞抑制関連分子（FOXP3、GITR、CTLA4、IL-10、PDCD1、EGR2）の mRNA 発現を解析し、APL 発現米の経口予防投与によって GITR mRNA 発現が上昇することを明らかにしている。さらに、脾臓の CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 細胞で Foxp3 発現レベルおよび GITR 発現レベルも上昇していることを明らかにし、著者は APL 発現米の経口予防投与によるこれらの発現上昇が制御性 T 細胞の抑制能を増強し、Th17 細胞の抑制を介して、IL-17 産生を低下させた可能性を考察している。

以上より、GIA マウスに対する APL 発現米の経口予防投与によって、制御性 T 細胞が活性化（Foxp3 発現および GITR 発現の上昇）し、Th17 細胞からの IL-17 産生の低下、BAFF 発現の低下が誘導され、その結果として血清抗 GPI 抗体産生が低下し関節炎が抑制されたと結論づけている。一方で、著者はアミノ酸配列を変換していない GPI ペプチドを発現させた遺伝子導入米でも同様の検討を行い、GIA に対する同様の抑制効果を確認している。この抑制機序について、著者は経口免疫寛容が寄与した可能性を考察している。また、APL 発現米の抑制機序との差違について、脾臓の CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 細胞における GITR 発現レベルの違いを明らかにしている。

## 審査の結果の要旨

### （批評）

本論文は、自己免疫疾患に対する Altered peptide ligand (APL) の経口予防投与の有効性を明らかにすると同時に、将来の臨床的実用性を鑑みて APL を米穀に発現させた点において斬新な研究と言える。また、実験内容は関節炎モデルマウスの関節炎減弱を肉眼的および組織学的に捉えることに始まり、最終的に APL による自己免疫応答の抑制機序にまで検討を進めた点で高く評価される。根治的治療薬に乏しい自己免疫疾患の新規治療戦略の一助として有用であるのみならず、抗原特異的な T 細胞応答に与える APL の影響を明らかにする上でも重要な研究成果と考える。経口投与された APL の腸管リンパ組織での動態や作用、ヒトでの応用を想定した治療的投与での有効性についての検討が今後の課題である。

平成 28 年 12 月 27 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。